Painel Hepático Plus Piccolo®

CE

Serviço de Apoio ao Cliente e de Assistência Técnica: 800-822-2947
Os clientes fora dos EUA deverão contactar o representante local da Abaxis para solicitar o serviço de apoio ao cliente

Aplicável apenas a clientes nos EUA
Dispensa dos critérios CLIA: Utilizar apenas sangue total com heparina de lítio
Complexidade moderada: Utilizar sangue total com heparina de lítio, plasma com heparina de lítio ou soro

Fevereiro 2014
PN: 400-7060 Rev.: R
© 1998, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587

1. Aplicação

O Painel Hepático Plus Piccolo®, utilizado com o Analisador Químico de Sangue Piccolo ou o Analisador Químico Piccolo xpress™, utiliza reagentes secos e líquidos para fornecer determinações quantitativas *in vitro* de alanina aminotransferase, albumina, fosfatase alcalina, amilase, aspartato aminotransferase, gama-glutamiltransferase, bilirrubina total e proteína total em sangue total heparinizado, plasma heparinizado ou soro em laboratórios clínicos ou locais de prestação de cuidados.

Apenas para clientes nos EUA

Os testes contidos neste painel estão dispensados ao abrigo dos regulamentos CLIA de 1988. Se um laboratório modificar as instruções do sistema de testes, estes serão considerados de elevada complexidade e sujeitos a todos os requisitos CLIA. Nos laboratórios com dispensa dos critérios CLIA, apenas pode ser testado sangue total com heparina de lítio. Em laboratórios de complexidade moderada, é possível utilizar sangue total heparinizado com lítio, plasma heparinizado com lítio ou soro.

É necessário um Certificado de Dispensa dos Critérios CLIA para realizar testes com dispensa dos critérios CLIA. É possível obter um Certificado de Dispensa junto dos Centros de Serviços Medicare e Medicaid (CMS). Contacte a Comissão para Acreditação de Laboratórios (Commission on Laboratory Accreditation, COLA) através do número 1-800-981-9883 para saber como obter um Certificado.

2. Resumo e explicação dos testes

O Painel Hepático Plus Piccolo e o Analisador Químico de Sangue Piccolo ou o Analisador Químico Piccolo xpress contêm um sistema de diagnóstico *in vitro* que ajuda o médico no diagnóstico das seguintes patologias.

Alanina aminotransferase:	Doenças hepáticas, incluindo hepatite viral e cirrose; doenças cardíacas.
Albumina:	Doenças hepáticas e renais.
Fosfatase alcalina:	Doenças hepáticas, ósseas, da paratiróide e intestinais.
Amilase:	Pancreatite.
Aspartato aminotransferase:	Doenças hepáticas, incluindo hepatite e icterícia viral, choque.
Gama-glutamiltransferase:	Doenças hepáticas, incluindo cirrose alcoólica e tumores hepáticos primários e secundários.
Bilirrubina total:	Distúrbios hepáticos, incluindo hepatite e obstrução da vesícula biliar; icterícia.
Proteína total:	Doenças hepáticas, renais, da medula óssea; distúrbios metabólicos e nutricionais.

3. Princípios dos testes

Alanina aminotransferase (ALT)
A alanina aminotransferase (ALT) tem sido medida segundo três métodos. Dois destes métodos – a técnica colorimétrica de acoplamento de dinitrofenilhidrazina[1,2] e o ensaio enzimático fluorescente – raramente são utilizados.[3] A técnica mais comum para determinar as concentrações de ALT no soro consiste no método enzimático baseado na obra de Wróblewski e LaDue[4]. Foi proposto um procedimento de Wróblewski e LaDue modificado como o procedimento recomendado pela Federação Internacional de Química Clínica (International Federation of Clinical Chemistry, IFCC).[5]

O método desenvolvido para utilização no Analisador Piccolo ou no Analisador Piccolo xpress é o mesmo que é recomendado pela IFCC, embora processado a uma temperatura mais elevada. Nesta reacção, a ALT catalisa a transferência de um grupo amino de L-alanina para α-cetoglutarato para formar L-glutamato e piruvato. A lactato desidrogenase catalisa a conversão de piruvato em lactato. Concomitantemente, o NADH é oxidado em NAD^+, conforme ilustrado no seguinte esquema de reacção.

$$\text{L-alanina} + \alpha\text{-cetoglutarato} \xrightarrow{\text{ALT}} \text{L-Glutamato} + \text{Piruvato}$$

$$\text{Piruvato} + \text{NADH} + H^+ \xrightarrow{\text{LDH}} \text{Lactato} + NAD^+$$

A taxa de variação da diferença de absorvância entre 340 nm e 405 nm deve-se à conversão de NADH em NAD^+ e é directamente proporcional à quantidade de ALT presente na amostra.

Albumina (ALB)
Os métodos iniciais utilizados para medir a albumina incluem técnicas de fraccionamento[6,7,8] e o teor de triptofano das globulinas.[9,10] Estes métodos são de realização insustentável e não possuem uma especificidade elevada. Duas técnicas imunoquímicas são consideradas como métodos de referência, mas são dispendiosas e morosas.[11] As técnicas de ligação por corante são os métodos mais frequentemente utilizados para medir a albumina. O verde de bromocresol (BCG) é o método de ligação por corante mais frequentemente utilizado, mas pode sobrestimar a concentração de albumina, especialmente no limite inferior do intervalo normal.[12] O púrpura de bromocresol (BCP) é o corante mais específico utilizado.[13,14]

Quando ligado à albumina, o púrpura de bromocresol muda de cor de amarelo para azul. A absorvância máxima varia com a mudança de cor.

$$\text{BCP} + \text{Albumina} \xrightarrow[\text{pH ácido}]{\text{Surfactantes}} \text{Complexo albumina-BCP}$$

A albumina ligada é proporcional à concentração de albumina na amostra. Trata-se de uma reacção de ponto final que é medida como a diferença de absorvância entre 600 nm e 550 nm.

Fosfatase alcalina (ALP)
As técnicas de medição da fosfatase alcalina foram inicialmente desenvolvidas há mais de 60 anos. Vários destes métodos espectrofotométricos de ponto final ou de dois pontos[15,16] são actualmente considerados obsoletos ou pouco práticos. A utilização de fosfato *p*-nitrofenil (*p*-NPP) aumentou a velocidade da reacção.[17,18] A fiabilidade desta técnica foi significativamente melhorada com a utilização de um tampão de iões metálicos para manter a concentração de iões de magnésio e zinco na reacção.[19] O método de referência da Associação Americana de Química Clínica (American Association for Clinical Chemistry, AACC)[20] utiliza o *p*-NPP como substrato e um tampão de iões metálicos.

O procedimento Piccolo consiste numa modificação dos métodos da AACC[20] e da IFCC[21]. A fosfatase alcalina hidrolisa o *p*-NPP num tampão de iões metálicos e forma *p*-nitrofenol e fosfato.

$$\text{Fosfato } p\text{-nitrofenil} \xrightarrow[Zn^{2+},\ Mg^{2+}]{\text{ALP}} \text{Fosfato } p\text{-nitrofenol} +$$

A quantidade de ALP na amostra é proporcional à taxa de aumento da diferença de absorvância entre 405 nm e 500 nm.

Amilase (AMY)
Foram desenvolvidos cerca de 200 testes diferentes para medir a amilase. A maioria dos procedimentos utiliza uma solução de polissacarídeos tamponada, mas emprega técnicas de detecção diferentes. Os métodos viscosimétricos não apresentam precisão e exactidão suficientes[22], enquanto os métodos turbidimétricos e iodométricos são difíceis de padronizar.[23,24] Os métodos frequentemente utilizados são o sacarogénico e o cromolítico. A técnica "clássica" de medição da amilase consiste num método sacarogénico[25], mas é difícil e morosa.[26] Recentemente, foram desenvolvidos métodos cromolíticos que utilizam *p*-nitrofenilglicosídeos como substratos.[27] Estes ensaios apresentam uma especificidade mais elevada para amilase pancreática do que para amilase salivar e são fáceis de monitorizar.[27]

No método Piccolo, o substrato, 2-cloro-*p*-nitrofenil-α-D-maltotriósido (CNPG3), reage com a α-amilase na amostra do doente, libertando 2-cloro-*p*-nitrofenol (CNP). A libertação de CNP cria uma alteração da cor.

$$\text{CNPG3} \xrightarrow{\alpha\text{-amilase}} \text{CNP + D-maltotriósido}$$

A reacção é medida bicromaticamente a 405 nm e 500 nm. A alteração da absorvância devido à formação de CNP é directamente proporcional à actividade da α-amilase na amostra.

Aspartato aminotransferase (AST)
O teste de aspartato aminotransferase (AST) baseia-se no método da taxa de Karmen[28] conforme modificado por Bergmeyer.[29] O actual método de referência da Federação Internacional de Química Clínica (IFCC) utiliza a técnica de Karmen/Bergmeyer de acoplamento da malato desidrogenase (MDH) e dinucleótido de nicotinamida (NADH) reduzido na detecção de AST no soro.[29,30] A lactato desidrogenase (LDH) é adicionada à reacção para reduzir a interferência provocada pelo piruvato endógeno.

A AST catalisa a reacção do L-aspartato e do α-cetoglutarato em oxalacetato e L-glutamato. O oxalacetato é convertido em malato e o NADH é oxidado em NAD^+ pelo catalisador MDH.

$$\text{L-aspartato + α-cetoglutarato} \xrightarrow{\text{AST}} \text{Oxalacetato + L-glutamato}$$

$$\text{Oxalacetato + NADH} \xrightarrow{\text{MDH}} \text{Malato + } NAD^+$$

A taxa de variação da absorvância a 340 nm/405 nm provocada pela conversão de NADH em NAD^+ é directamente proporcional à quantidade de AST presente na amostra.

Gama-glutamiltransferase (GGT)
Os primeiros métodos quantitativos desenvolvidos para medir a gama-glutamiltransferase (GGT) envolviam uma segunda reacção para formar um corante azo que era combinado com um cromóforo.[39,40] A mudança para L-γ-glutamil-*p*-nitroanilida como substrato na reacção eliminou o passo de formação de corante.[41] Devido à fraca solubilidade e estabilidade da L-γ-glutamil-*p*-nitroanilida, este procedimento foi modificado de modo a utilizar o substrato L-γ-glutamil-3-carboxi-4-nitroanilida.[42] A Federação Internacional de Química Clínica (IFCC) recomendou que o método de GGT se baseie neste substrato, sendo a glicilglicina o outro substrato.[43]

A Abaxis modificou o método da IFCC para reagir a 37 °C. A adição de uma amostra contendo gama-glutamiltransferase aos substratos L-γ-glutamil-3-carboxi-4-nitroanilida e glicilglicina (gli-gli) provoca a formação de L-γ-glutamil-glicilglicina (glu-gli-gli) e 3-carboxi-4-nitroanilina.

$$\text{L-γ-glutamil- + Gli-gli-3-carboxi 4-nitroanilida} \xrightarrow{\text{GGT}} \text{Glu-gli-gli + 3-carboxi-4-nitroanilina}$$

A absorvância desta reacção de cinética é medida a 405 nm. A produção de 3-carboxi-4-nitroanilina é directamente proporcional à actividade da GGT na amostra.

Bilirrubina total (TBIL)
Os níveis de bilirrubina total têm sido normalmente medidos por testes que utilizam ácido sulfanílico diazotado.[32,44] Foi desenvolvido um método mais recente e mais específico utilizando a enzima bilirrubina oxidase.[34,35,36] Além de utilizar o método de teste de bilirrubina total mais específico, a fotodegradação do analito é minimizada no Sistema Piccolo, uma vez que a amostra pode ser testada imediatamente após a colheita.

No procedimento enzimático, a bilirrubina é oxidada pela bilirrubina oxidase em biliverdina. A reacção final é a conversão da biliverdina em vários compostos púrpura.

$$\text{Bilirrubina} + O_2 \xrightarrow{\text{Bilirrubina oxidase}} \text{Biliverdina} + H_2O$$

A bilirrubina é quantificada como a diferença de absorvância entre 467 nm e 550 nm. A absorvância inicial desta reacção de ponto final é determinada pela cuvete de bilirrubina de branco e a absorvância final é obtida a partir da cuvete de teste de bilirrubina. A quantidade de bilirrubina na amostra é proporcional à diferença entre as medições de absorvância inicial e final.

Proteína total (TP)
O método de proteína total é uma modificação da reacção do biureto, conhecida pela sua precisão, exactidão e especificidade.[45] Originalmente desenvolvida por Riegler[46] e modificada por Weichselbaum[47], Doumas et al[48] propuseram uma reacção do biureto como candidato a método de referência para a proteína total.

Na reacção do biureto, a solução proteica é tratada com iões cúpricos [Cu(II)] num meio alcalino forte. São adicionados tartarato de potássio e sódio e iodeto de potássio para evitar a precipitação de hidróxido de cobre e a auto-redução de cobre, respectivamente.[47] Os iões Cu(II) reagem com as ligações peptídicas entre os átomos de oxigénio no carbonilo e de nitrogénio no amido para formar um complexo Cu-proteína colorido.

$$\text{Proteína total} + \text{Cu(II)} \xrightarrow{OH^-} \text{Complexo Cu-proteína}$$

A quantidade de proteína total presente na amostra é directamente proporcional à absorvância do complexo Cu-proteína. O teste de proteína total é uma reacção de ponto final e a absorvância é medida como a diferença de absorvância entre 550 nm e 850 nm.

4. Princípios do procedimento

Consulte no Manual do Operador do Analisador Piccolo ou do Analisador Piccolo xpress os princípios do procedimento.

5. Descrição dos reagentes

Reagentes
Cada disco de reagente do Painel Hepático Plus Piccolo contém esferas de reagente secas específicas do teste (descritas abaixo). É incluído em cada disco um reagente de branco de amostra seca (composto por tampão, surfactantes, excipientes e conservantes) para utilização no cálculo de concentrações de alanina aminotransferase (ALT), albumina (ALB), fosfatase alcalina (ALP), amilase (AMY), aspartato aminotransferase (AST) e gama-glutamiltransferase (GGT). São incluídas no disco para bilirrubina total e proteína total brancos de amostra dedicados. Cada disco de reagente contém ainda um diluente líquido composto por surfactantes, excipientes e conservantes.

Tabela 1: Reagentes

Componente	Quantidade/Disco
Reagente de alanina aminotransferase	
L-alanina	874 µg
Ácido α-cetoglutárico	54 µg
β-nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) reduzido	7 µg
Lactato desidrogenase (LDH) (*Staphylococcus epidermidis)*	0,09 U
Tampões, surfactantes, excipientes e conservantes	
Reagente de albumina	
Púrpura de bromocresol, sal sódico	2 µg
Tampão, surfactante, excipientes e conservantes	
Reagente de fosfatase alcalina	
Cloreto de magnésio	3 µg
Sulfato de zinco	3 µg
p-NPP, sal dissódico	56 µg
Tampões, surfactantes, excipientes e conservantes	
Reagente de amilase	
CNPG3	40 µg
Tampão, surfactante, excipientes e conservantes	

Tabela 1 (continuação): Reagentes

Componente	Quantidade/Disco
Reagente de aspartato aminotransferase	
Ácido L-aspártico	426 µg
Lactato desidrogenase (LDH) (*Staphylococcus epidermidis)*	0,04 U
β-nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) reduzido	5 µg
Malato desidrogenase (MDH) (coração de porco)	0,01 U
Ácido α-cetoglutárico	28 µg
Tampões, surfactantes, excipientes e conservantes	
Reagente de gama-glutamiltransferase	
Glicilglicina	317 µg
Ácido L-glutâmico γ-(3-carboxi-4-nitroanilida)	30 µg
Tampão, surfactante, excipientes e conservantes	
Reagente de bilirrubina total	
Reagente enzimático de bilirrubina Beckman	0,1 U
Tampão, excipientes e conservantes	
Branco de bilirrubina total	
Tampão, excipientes e conservantes	
Reagente de proteína total	
Tartarato de potássio e sódio	343 µg
Sulfato cúprico	134 µg
Iodeto de potássio	28 µg
Excipientes e conservantes	
Branco de proteína total	
Tartarato de potássio e sódio	343 µg
Iodeto de potássio	28 µg
Excipientes e conservantes	

Advertências e precauções

- O recipiente de diluente no disco de reagente é automaticamente aberto ao fechar a gaveta do analisador. Não é possível reutilizar um disco com um recipiente de diluente aberto. Certifique-se de que a amostra ou o controlo foi colocada/o no disco antes de fechar a gaveta.

- Os discos de reagente usados contêm fluidos corporais humanos. Siga as boas práticas de controlo de infecções quando manusear e eliminar discos usados.[49] Consulte no Manual do Operador do Analisador Químico de Sangue Piccolo ou do Analisador Químico Piccolo xpress as instruções de limpeza de derrames biologicamente perigosos.

- Os discos de reagente são de plástico e podem rachar ou partir-se se caírem. **Nunca** utilize um disco que tenha caído, uma vez que pode espalhar materiais biologicamente perigosos no interior do analisador.

- As esferas de reagente podem conter ácidos ou substâncias cáusticas. O operador não entra em contacto com as esferas de reagente se os procedimentos recomendados forem seguidos. Na eventualidade de manuseamento das esferas (por exemplo, durante a limpeza depois de um disco cair e se partir), evite a ingestão, o contacto com a pele ou a inalação das esferas de reagente.

- As esferas de reagente e diluente contêm azida de sódio, que pode reagir com o chumbo e cobre existente nas canalizações, formando azidas metálicas altamente explosivas. Os reagentes não entram em contacto com canalizações de chumbo e cobre se os procedimentos recomendados forem seguidos. No entanto, se os reagentes entrarem em contacto com este tipo de canalizações, lave abundantemente com água para evitar a acumulação de azidas.

Armazenamento
Armazene os discos de reagente nas respectivas bolsas seladas a 2–8 °C (36–46 °F). Para utilizar os discos de reagente, retire do frigorífico as bolsas de folha de alumínio com os discos. Os discos nas bolsas seladas podem ser deixados à temperatura ambiente e colocados novamente no frigorífico várias vezes. Certifique-se de que o tempo total em que os discos se encontram à temperatura ambiente não excede as 48 horas. Abra a bolsa e retire o disco imediatamente antes de realizar o teste.

Não exponha os discos, dentro ou fora das bolsas de folha de alumínio, a luz solar directa ou a temperaturas superiores a 32 °C (90 °F). Um disco deve ser utilizado no prazo de 20 minutos após a abertura da bolsa; um disco numa bolsa aberta não pode ser colocado novamente no frigorífico para utilização posterior.

Indicações de instabilidade/deterioração do disco de reagente
Não utilize um disco nas seguintes situações:
- após o prazo de validade. Será apresentada uma mensagem de erro no visor do Analisador Químico de Sangue Piccolo ou no Analisador Químico Piccolo xpress se utilizar um disco fora do prazo de validade;
- se o disco for proveniente de uma bolsa rasgada ou que apresente qualquer tipo de danos; ou
- se o exsicante apresentar a cor rosa quando observado através da tira da embalagem incluída na bolsa do disco.

6. Instrumento

Consulte no Manual do Operador do Analisador Piccolo ou do Analisador Piccolo xpress informações completas sobre como utilizar o analisador.

7. Colheita e preparação das amostras

As técnicas de colheita de amostras são descritas no Manual do Operador do Analisador Químico de Sangue Piccolo ou do Analisador Químico Piccolo xpress.

- O volume mínimo da amostra necessário é de ~90 µL de sangue total heparinizado, plasma heparinizado, soro ou controlo de soro. A câmara da amostra do disco de reagente pode conter até 120 µL de amostra.
- As amostras de punção no dedo devem ser distribuídas **imediatamente** no disco de reagente após a colheita.
- As amostras de sangue total obtidas por punção venosa devem apresentar-se homogéneas antes de serem transferidas para o disco de reagente. Inverta suavemente o tubo de colheita várias vezes imediatamente antes de transferir a amostra. **Não** agite o tubo de colheita; a agitação pode provocar hemólise.
- As amostras de sangue total por punção venosa deverão ser processadas no prazo de 60 minutos após a colheita.[50] A refrigeração de amostras de sangue total pode provocar alterações significativas nas concentrações de **aspartato aminotransferase.**[51] A amostra pode ser separada em plasma ou soro e armazenada em tubos de amostra com tampa, a 2–8 °C (36–46 °F), caso não seja possível processar a amostra no prazo de 60 minutos.
- Os resultados de **bilirrubina total** podem ser adversamente afectados pela fotodegradação. As amostras de sangue total que não sejam processadas imediatamente não devem ser armazenadas no escuro durante um período superior a 60 minutos. Se não for possível analisar a amostra dentro desse período, deverá ser separada em plasma ou soro e armazenada num tubo de amostra com tampa no escuro a baixas temperaturas.[52]

Substâncias interferentes conhecidas
- O único anticoagulante recomendado para utilização no protocolo de teste Piccolo é a heparina de lítio. A Abaxis realizou estudos que demonstram que o EDTA, fluoreto, oxalato e qualquer anticoagulante que contenha iões de amónio interferem com pelo menos um dos químicos contidos no Painel Hepático Plus Piccolo.
- A **amilase** é segregada por várias glândulas, bem como pelo pâncreas. Apenas a amilase pancreática apresenta interesse clínico.[53] A contaminação de uma amostra com amilase não pancreática irá provocar resultados artificialmente elevados. As amostras de punção no dedo são mais propensas a contaminação do que as amostras de punção venosa. Se os resultados de amilase de uma amostra de punção no dedo não forem consistentes com os sintomas clínicos do doente, repita o teste utilizando uma amostra de punção venosa.
- Pode observar-se interferência no teste de **proteína total** quando a análise de amostras com uma concentração de triglicéridos >400 mg/dL apresentar um aumento do nível de proteína total. O Analisador Piccolo ou o Analisador Piccolo xpress suprime quaisquer resultados que sejam afectados por >10% de interferência resultante de lipémia. A indicação "LIP" é impressa no cartão de resultado em vez do resultado.

8. Procedimento

Materiais necessários
Consulte no Manual do Operador do Analisador Piccolo ou do Analisador Piccolo xpress informações sobre como encomendar os materiais necessários para utilizar o Analisador Químico de Sangue Piccolo ou o Analisador Químico Piccolo xpress de acordo com o procedimento recomendado.

- Um disco de reagente do Painel Hepático Plus Piccolo, PN: 400-1003 (uma caixa de discos, PN: 400-0003)

Materiais necessários mas não fornecidos

- Analisador Químico de Sangue Piccolo ou Analisador Químico Piccolo xpress.
- As pipetas de transferência de amostras (volume fixo de aproximadamente 100 µL) e as pontas são fornecidas com cada Analisador Químico de Sangue Piccolo ou com o Analisador Químico Piccolo xpress e podem ser encomendadas novamente junto da Abaxis.
- Reagentes de controlo disponíveis no mercado recomendados pela Abaxis (contacte o Serviço de Assistência Técnica da Abaxis para obter mais informações sobre os materiais de controlo e os valores esperados).
- Temporizador.

Parâmetros de teste
O Analisador Químico de Sangue Piccolo ou o Analisador Químico Piccolo xpress funciona a temperaturas ambiente entre os 15 °C e os 32 °C (59–90 °F). O tempo de análise para cada Painel Hepático Plus Piccolo é <14 minutos. O analisador mantém o disco de reagente à temperatura de 37 °C (98,6 °F) durante o intervalo de medição.

Procedimento de teste
Os procedimentos completos de colheita da amostra e os procedimentos passo a passo relativos ao funcionamento são descritos no Manual do Operador do Analisador Químico de Sangue Piccolo ou do Analisador Químico Piccolo xpress.

Controlo de qualidade
Consulte a Secção 2.4 do Manual do Operador do Analisador Piccolo ou a Secção 6 (Calibração e controlo de qualidade) do Manual do Operador do Analisador Piccolo xpress. O desempenho do Analisador Químico de Sangue Piccolo ou do Analisador Químico Piccolo xpress pode ser verificado através do processamento de controlos. Para obter uma lista dos materiais de controlo de qualidade aprovados com os intervalos de aceitação, contacte a Assistência Técnica da Abaxis. Outros controlos à base de soro humano ou plasma podem não ser compatíveis. Os materiais de controlo de qualidade devem ser armazenados de acordo com o folheto informativo incluído nos controlos.

Se os resultados de controlo estiverem fora do intervalo, repita o controlo uma vez. Se continuarem fora do intervalo, contacte a Assistência Técnica. Não inclua os resultados no relatório se os controlos estiverem fora dos limites rotulados. Consulte no Manual do Operador do Analisador Piccolo ou Piccolo xpress uma descrição detalhada sobre o processamento, registo, interpretação e representação gráfica dos resultados de controlo.

Laboratórios abrangidos pela dispensa: A Abaxis recomenda a realização de testes de controlo conforme os seguintes parâmetros:

- pelo menos a cada 30 dias
- sempre que as condições laboratoriais tiverem sofrido alterações significativas, por exemplo, se o Analisador Piccolo tiver sido deslocado para uma nova localização ou em caso de alterações no controlo da temperatura
- nos casos em que seja indicada a formação ou renovação da formação de pessoal
- com cada novo lote (testes com dispensa dos critérios CLIA em laboratórios com o estado de dispensa)

Laboratórios não abrangidos pela dispensa: A Abaxis recomenda que os testes de controlo sigam as directrizes federais, estatais e locais.

Calibração
O Analisador Químico de Sangue Piccolo ou o Analisador Químico Piccolo xpress encontra-se calibrado pelo fabricante antes do envio. O código de barras impresso no anel de código de barras indica ao analisador os dados de calibração específicos do disco. Consulte o Manual do Operador do Analisador Piccolo ou do Analisador Piccolo xpress.

9. Resultados

O Analisador Químico de Sangue Piccolo ou o Analisador Químico Piccolo xpress calcula e imprime automaticamente as concentrações do analito na amostra. Os detalhes dos cálculos de reacção de ponto final e cinética encontram-se no Manual do Operador do Analisador Químico de Sangue Piccolo ou do Analisador Químico Piccolo xpress. A interpretação dos resultados é descrita no Manual do Operador. Os resultados são impressos em cartões de resultados fornecidos pela Abaxis. Os cartões de resultados têm um verso autocolante para facilitar a colocação nos ficheiros dos doentes.
A reacção para cada analito ocorre a 37 °C (98,6 °F).

10. Limitações do procedimento

As limitações gerais do procedimento são descritas no Manual do Operador do Analisador Piccolo ou do Analisador Piccolo xpress.

- O único anticoagulante **recomendado para utilização** com o Analisador Piccolo ou Piccolo xpress é a **heparina de lítio**. Não utilize heparina de sódio.
- Recomenda-se que os testes de **albumina** sejam processados utilizando sangue total venoso ou soro em vez de sangue total por punção no dedo. As técnicas de colheita de amostras por punção no dedo podem provocar mais traumatismos celulares do que as técnicas de punção venosa.
- As amostras com hematócritos com um excesso de volume de concentrado de eritrócitos de 62–65% (uma fracção de volume de 0,62–0,65) podem apresentar resultados inexactos. As amostras com um nível elevado de hematócritos podem ser incluídas nos relatórios como hemolisadas. Estas amostras podem ser centrifugadas de forma a obter plasma e reprocessadas num novo disco de reagente.
- A **amilase** é segregada por várias glândulas, bem como pelo pâncreas. Apenas a amilase pancreática apresenta interesse clínico.[53] A contaminação de uma amostra com amilase não pancreática irá provocar resultados artificialmente elevados. As amostras de punção no dedo são mais propensas a contaminação do que as amostras de punção venosa. Se os resultados de amilase de uma amostra de punção no dedo não forem consistentes com os sintomas clínicos do doente, repita o teste utilizando uma amostra de punção venosa.
- **Qualquer resultado de um determinado teste que exceda o intervalo de ensaio deverá ser analisado através de outro método de teste aprovado ou enviado para um laboratório de referência. Não dilua a amostra e processe novamente no Analisador Químico de Sangue Piccolo ou no Analisador Químico Piccolo xpress.**

  Advertência: Testes extensivos com o Analisador Químico de Sangue Piccolo ou o Analisador Químico Piccolo xpress demonstraram que, em casos muito raros, a amostra distribuída no disco de reagente pode não fluir devidamente para a câmara da amostra. Devido ao fluxo não uniforme, é possível que seja analisada uma quantidade de amostra inadequada e vários resultados poderão encontrar-se fora dos intervalos esperados. A amostra pode ser reprocessada utilizando um novo disco de reagente.

Interferência
Foram testadas substâncias como interferentes com os analitos. Foram preparados pools de soro humano. A concentração a que cada substância potencialmente interferente foi testada baseou-se nos níveis de teste da directriz NCCLS EP7-A.[15]

Efeitos de substâncias endógenas
- As substâncias interferentes fisiológicas (hemólise, icterícia e lipémia) provocam alterações nas concentrações apresentadas de alguns analitos. Os índices de amostra encontram-se impressos na parte inferior de cada cartão de resultado para informar o operador dos níveis de substâncias interferentes presentes em cada amostra.
- O Analisador Químico de Sangue Piccolo ou o Analisador Químico Piccolo xpress suprime quaisquer resultados que sejam afectados por >10% de interferência resultante de hemólise, lipémia ou icterícia. A indicação “HEM”, “LIP” ou “ICT”, respectivamente, é impressa no cartão de resultado em vez do resultado.
- Para obter mais informações sobre os níveis máximos de substâncias endógenas, contacte o Serviço de Assistência Técnica da Abaxis.
- Adicionalmente, conclui-se que o lactato a 230 mg/dL e a lactato desidrogenase a 10.000 U/L não têm qualquer efeito em nenhum dos ensaios deste disco.

Efeitos de substâncias terapêuticas

- Os seguintes compostos não interferem significativamente com os químicos do Disco de Reagente Piccolo. A interferência significativa define-se como um desvio no resultado >10% para uma amostra de intervalo normal. Os pools de soro humano foram suplementados com concentrações conhecidas dos fármacos ou químicos e posteriormente analisados.

Substâncias terapêuticas ou exógenas	Concentração sem interferência significativa (mg/dL)	Intervalo fisiológico ou terapêutico[54-57] (mg/dL)
Acetaminofeno	100	1–2
Ácido acetilsalicílico	50	2–10
Cloranfenicol	100	1–2,5
Cimetidina	16	0,1–1
Dextrano	300	600–1800
Eritromicina	10	0,2–2,0
Hidroclorotiazida	7,5	—
Isoniazida	4	0,1–0,7
Cetoprofeno	50	—
Lidocaína	1	0,15–0,6
Meticilina	100	—
Metotrexato	0,5	0,1
Metronidazol	5	0,1
Nafcilina	1	—
Oxacilina	1	—
Fenitoína	3	1–2
Rifampicina	0,5	0,4–3
Ácido salicílico	25	15–30

As seguintes substâncias apresentaram uma interferência superior a 10%. A interferência significativa define-se como um desvio no resultado >10% para uma amostra de intervalo normal. Os pools de soro humano foram suplementados com concentrações conhecidas dos fármacos ou químicos e posteriormente analisados.

	Concentração sem interferência significativa (mg/dL)	Intervalo fisiológico ou terapêutico[54-57] (mg/dL)	Interferência
Alanina aminotransferase (ALT)			
Ácido ascórbico	20	0,8–1,2	aum. 11%*
Oxalacetato	132	—	aum. 843%
Albumina (ALB)			
Acetoacetato	102	0,05–3,60	dim. 18%*
Ampicilina	30	0,5	dim. 12%
Cafeína	10	0,3–1,5	dim. 14%
Cloreto de cálcio	20	—	dim. 17%
Cefalotina (Keflin)	400	10	aum. 13%
Ibuprofeno	50	0,5–4,2	aum. 28%
α-cetoglutarato	5	—	dim. 11%
Nitrofurantoína	20	0,2	dim. 13%
Prolina	4	—	aum. 12%
Sulfalazina	10	2–4	dim. 14%
Sulfanilamida	50	10–15	dim. 12%
Teofilina	20	1–2	dim. 11%
Fosfatase alcalina (ALP)			
Teofilina	20	1–2	dim. 42%
Bilirrubina total[9] (TBIL)			
Dopamina	19	—	dim. 55%
L-dopa	5	—	dim. 17%

*aum.=aumento; dim.=diminuição

Para mais informações sobre substâncias químicas potencialmente interferentes, consulte a Bibliografia.

11. Valores esperados

Foram utilizadas amostras de um total de 193 adultos do sexo masculino e feminino, analisadas no Analisador Químico de Sangue Piccolo, para determinar os intervalos de referência para a alanina aminotransferase, albumina, fosfatase alcalina, amilase, bilirrubina total e proteína total. Foram utilizadas amostras de um total de 186 adultos do sexo masculino e feminino, analisadas no Analisador Químico de Sangue Piccolo, para determinar os intervalos de referência para a aspartato aminotransferase. Foram utilizadas amostras de um total de 131 adultos do sexo masculino e feminino, analisadas no Analisador Químico de Sangue Piccolo, para determinar os intervalos de referência para a gama-glutamiltransferase.

Estes intervalos são fornecidos apenas como orientação. Recomenda-se que o seu departamento ou a sua instituição estabeleçam os intervalos normais para a área geográfica onde se situa.

Tabela 2: Intervalos de referência do Analisador Piccolo

Analito	Intervalo de referência	
	Unidades comuns	**Unidades SI**
Alanina aminotransferase (ALT)	10–47 U/L	10–47 U/L
Albumina (ALB)	3,3–5,5 g/dL	33–55 g/L
Fosfatase alcalina (ALP), homem	53–128 U/L	53–128 U/L
Fosfatase alcalina (ALP), mulher	42–141 U/L	42–141 U/L
Amilase (AMY)	14–97 U/L	14–97 U/L
Aspartato aminotransferase (AST)	11–38 U/L	11–38 U/L
Gama-glutamiltransferase (GGT)	5–65 U/L	5–65 U/L
Bilirrubina total (TBIL)	0,2–1,6 mg/dL	3,4–27,4 µmol/L
Proteína total (TP)	6,4–8,1 g/dL	64–81 g/L

A **amilase** é segregada por várias glândulas, bem como pelo pâncreas. Apenas a amilase pancreática apresenta interesse clínico.[53] A contaminação de uma amostra com amilase não pancreática irá provocar resultados artificialmente elevados. As amostras de punção no dedo são mais propensas a contaminação do que as amostras de punção venosa. Se os resultados de amilase de uma amostra de punção no dedo não forem consistentes com os sintomas clínicos do doente, repita o teste utilizando uma amostra de punção venosa.

12. Características de desempenho

Linearidade
A química de cada analito é linear no intervalo dinâmico abaixo indicado quando o Analisador Químico de Sangue Piccolo ou o Analisador Químico Piccolo xpress é utilizado de acordo com o procedimento recomendado (consulte o Manual do Operador do Analisador Piccolo ou do Analisador Piccolo xpress).

Tabela 3: Intervalos dinâmicos do Analisador Piccolo

Analito	Intervalo dinâmico	
	Unidades comuns	**Unidades SI**
Alanina aminotransferase (ALT)	5–2000 U/L	5-2000 U/L
Albumina (ALB)	1–6,5 g/dL	10–65 g/L
Fosfatase alcalina (ALP)	5–2400 U/L	5–2400 U/L
Amilase (AMY)	5–4000 U/L	5–4000 U/L
Aspartato aminotransferase (AST)	5–2000 U/L	5–2000 U/L
Gama-glutamiltransferase (GGT)	5–3000 U/L	5–3000 U/L
Bilirrubina total (TBIL)	0,1–30 mg/dL	1,7–513 µmol/L
Proteína total (TP)	2–14 g/dL	20–140 g/L

Se a concentração de analitos se situar acima do intervalo de medição (intervalo dinâmico), mas for inferior ao intervalo do sistema, o cartão impresso irá indicar um sinal “>” no limite superior e um asterisco depois do número, por exemplo, ALT >2000* U/L. Se for inferior ao intervalo dinâmico, será impresso um “<” com um asterisco, por exemplo, ALT <5* U/L. Para valores que se situem largamente fora do intervalo de medição (intervalo do sistema), será impresso “~~~” em vez de um

resultado. Sempre que "~~~" for apresentado num cartão impresso, recolha uma nova amostra e reprocesse o teste. Se os resultados da segunda amostra forem novamente suprimidos, contacte o Serviço de Apoio ao Cliente da Abaxis.

Especificidade
O limite inferior de detecção para cada analito é de: alanina aminotransferase 10 U/L; albumina 1 g/dL (10 g/L); fosfatase alcalina 5 U/L; amilase 5 U/L; aspartato aminotransferase 5 U/L; gama-glutamiltransferase 5 U/L; bilirrubina total 0,1 mg/dL (1,7 µmol/L); e proteína total 2 g/dL (20 g/L).

Precisão
Foram realizados estudos de precisão utilizando as directrizes NCCLS EP5-T2.[60] Os resultados intra-ensaio e de precisão total foram determinados testando dois níveis de material de controlo.

Tabela 4: Precisão (N=80)

Analito	Intra-ensaio	Total
Alanina aminotransferase (U/L)		
Nível de controlo 1		
Média	21	21
DP	2,76	2,79
%CV	13,4	13,5
Nível de controlo 2		
Média	52	52
DP	2,70	3,25
%CV	5,2	6,2
Albumina (g/dL)		
Nível de controlo 1		
Média	5,6	5,6
DP	0,09	0,11
%CV	1,7	2,1
Nível de controlo 2		
Média	3,7	3,7
DP	0,07	0,11
%CV	2,0	2,9
Fosfatase alcalina (U/L)		
Nível de controlo 1		
Média	39	39
DP	1,81	2,29
%CV	4,6	5,8
Nível de controlo 2		
Média	281	281
DP	4,08	8,75
%CV	1,5	3,1
Amilase (U/L)		
Nível de controlo 1		
Média	46	46
DP	2,40	2,63
%CV	5,2	5,7
Nível de controlo 2		
Média	300	300
DP	11,15	11,50
%CV	3,7	3,8

Tabela 4 (continuação): Precisão (N=80)

Analito	Intra-ensaio	Total
Aspartato aminotransferase (U/L)		
Nível de controlo 1		
Média	47	49
DP	0,98	0,92
%CV	2,07	1,88
Nível de controlo 2		
Média	145	147
DP	1,83	1,70
%CV	1,26	1,16
Gama-glutamiltransferase (U/L)		
Nível de controlo 1		
Média	25	25
DP	0,59	0,74
%CV	2,34	2,94
Nível de controlo 2		
Média	106	106
DP	1,52	2,29
%CV	1,43	2,15
Bilirrubina total (mg/dL)		
Nível de controlo 1		
Média	0,8	0,8
DP	0,06	0,07
%CV	8,0	9,3
Nível de controlo 2		
Média	5,2	5,2
DP	0,09	0,15
%CV	1,7	2,8
Proteína total (g/dL)		
Nível de controlo 1		
Média	6,8	6,8
DP	0,05	0,08
%CV	0,8	1,2
Nível de controlo 2		
Média	4,7	4,7
DP	0,09	0,09
%CV	2,0	2,0

Correlação
Foram colhidas amostras de sangue total heparinizado e de soro de doentes em dois locais. As amostras de sangue total foram analisadas pelo Analisador Químico de Sangue Piccolo nos locais de colheita e as amostras de soro foram analisadas pelo Analisador Piccolo e por métodos comparativos. Em alguns casos, foram utilizadas amostras com elevada e reduzida suplementação para cobrir o intervalo dinâmico. Todas as amostras foram processadas isoladamente no mesmo dia. A Tabela 5 apresenta estatísticas de correlação representativas.

Tabela 5: Correlação do Analisador Químico de Sangue Piccolo com o método comparativo

	Sangue Total	
	Laboratório 1	**Laboratório 2**
Alanina aminotransferase (U/L)		
Correlação	0,98	0,99
Declive	0,91	0,94
Intercepção	1,3	–2,5
EPE	3,21	2,84
N	86	67
Intervalo da amostra	10–174	10–174
Método comparativo	Paramax®	Technicon
Albumina (g/dL)		
Correlação	0,85	0,90
Declive	1,0	0,88
Intercepção	–0,3	–0,1
EPE	0,22	0,21
N	261	100
Intervalo da amostra	1,1–5,3	1,5–5,0
Método comparativo	Paramax®	Beckman
Fosfatase alcalina (U/L)		
Correlação	0,99	0,93
Declive	0,97	1,14
Intercepção	–5,9	–17,6
EPE	3,97	4,79
N	99	80
Intervalo da amostra	27–368	26–150
Método comparativo	Paramax®	Technicon
Amilase (U/L)		
Correlação	0,98	0,96
Declive	0,69	1,07
Intercepção	–4,7	–4,1
EPE	3,11	3,47
N	99	80
Intervalo da amostra	11–92	19–118
Método comparativo	Paramax®	Technicon
Aspartato aminotransferase (U/L)	0,93	1,0
Correlação	0,87	0,97
Declive	5,3	3,0
Intercepção	2,76	1,90
EPE	159	46
N	13–111	13–252
Intervalo da amostra	Paramax®	DAX™
Método comparativo		
Gama-glutamiltransferase (U/L)		
Correlação	1,0	1,0*
Declive	0,98	1,60*
Intercepção	–0,4	3,1*
EPE	3,29	18,57*
N	135	49
Intervalo da amostra	5–312	27–1848
Método comparativo	Paramax®	Beckman

Tabela 5 (continuação): Correlação do Analisador Químico de Sangue Piccolo com o método comparativo

	Sangue Total	
	Laboratório 1	Laboratório 2
Bilirrubina total (mg/dL)		
Correlação	0,97	0,98
Declive	0,90	1,11
Intercepção	0,0	–0,4
EPE	0,07	0,09
N	250	91
Intervalo da amostra	0,2–3,7	0,1–6,4
Método comparativo	Paramax®	Beckman
Proteína total (g/dL)		
Correlação	0,85	0,87
Declive	0,93	0,94
Intercepção	0,6	0,3
EPE	0,19	0,16
N	251	92
Intervalo da amostra	5,7–9,2	6,5–9,2
Método comparativo	Paramax®	Beckman

*O Laboratório 2 processou apenas soro no Analisador Piccolo para a correlação de teste de gama-glutamiltransferase.

Resultados do estudo com utilizadores sem formação

Foi realizado um estudo com "utilizadores sem formação", no qual os participantes receberam apenas as instruções do teste e lhes foi solicitado que realizassem testes em 3 discos com amostras aleatorizadas e com ocultação. As amostras consistiam em pools de soro preparados a três níveis para cada um dos oito analitos: ALT, albumina, ALP, AMY, AST, GGT, bilirrubina total e proteína total. Os participantes não receberam qualquer formação sobre a utilização do teste. No total, foram inscritos aproximadamente 60 participantes de 3 locais, representando uma população demográfica (educação, idade, sexo, etc.) variada.

As tabelas abaixo apresentam o resumo do desempenho para cada analito.

Alanina aminotransferase (ALT)

	Nível 1	Nível 2	Nível 3
N	62	62	62
Média	45,4 U/L	98,9 U/L	184,3 U/L
%CV	3,7%	1,7%	1,5%
Intervalo observado	42–53	96–103	175–191
Percentagem de resultados dentro do intervalo ±15,0%*	98,4% 61/62 IC de 95%: 91,3% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%

* Esta percentagem baseia-se no pressuposto de que não se consegue distinguir devidamente entre valores normais e anormais quando os erros são superiores a um quarto do intervalo normal. Foi considerado o intervalo de 10 U/L – 47 U/L.

Albumina (ALB)

	Nível 1	Nível 2	Nível 3
N	62	62	62
Média	30 g/dL	3,5 g/dL	4,2 g/dL
%CV	2,7%	2,5%	1,8%
Intervalo observado	2,9–3,2	3,3–3,7	4,0–4,4
Percentagem de resultados dentro do intervalo ±12,5%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%

Fosfatase alcalina (ALP)

	Nível 1	Nível 2	Nível 3
N	62	62	62
Média	94,5 U/L	171,5 U/L	337,5 U/L
%CV	5,2%	3,2%	2,4%
Intervalo observado	85–106	160–184	287–388
Percentagem de resultados dentro do intervalo ±15,0%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%

Amilase (AMY)

	Nível 1	Nível 2	Nível 3
N	62	62	62
Média	72,1 U/L	126,9 U/L	260,0 U/L
%CV	2,4%	2,1%	1,9%
Intervalo observado	67–75	120–133	248–273
Percentagem de resultados dentro do intervalo ±15,0%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%

Aspartato aminotransferase (AST)

	Nível 1	Nível 2	Nível 3
N	62	62	62
Média	56,0	120,4	276,3
%CV	2,4%	1,1%	1,0%
Intervalo observado	54–60	117–124	266–285
Percentagem de resultados dentro do intervalo ±15,0%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%

Gama-glutamiltransferase (GGT)

	Nível 1	Nível 2	Nível 3
N	62	62	62
Média	35,0 U/L	86,2 U/L	131,3 U/L
%CV	2,8%	1,5%	1,5%
Intervalo observado	33–38	83–90	123–135
Percentagem de resultados dentro do intervalo ±15,0%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%

Bilirrubina total (TBIL)

	Nível 1	Nível 2	Nível 3
N	62	62	62
Média	0,86 mg/dL	2,5 mg/dL	5,7 mg/dL
%CV	6,1%	2,6%	1,8%
Intervalo observado	0,8–1,0	2,3–2,6	5,4–5,9
Percentagem de resultados dentro do intervalo ±15,0%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%

Proteína total (TP)

	Nível 1	Nível 2	Nível 3
N	62	62	62
Média	4,8 g/dL	5,7 g/dL	7,1 g/dL
%CV	2,0%	1,5%	1,5%
Intervalo observado	4,6–5,3	5,3–5,9	6,7–7,5
Percentagem de resultados dentro do intervalo ±5,9%	98,4% 61/62 IC de 95%: 91,3% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%

13. Bibliografia

1. Tonhazy, NE, NG White, and WW Umbreit. 1950. A rapid method for the estimation of the glutamic-aspartic transaminase in tissues and its application to radiation sickness. Arch Biochem 28: 36-42.
2. Reitman, S and S Frankel. 1957. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transminases. Am J Clin Pathol 28: 56-63.
3. Murray, RL. 1989. Alanine aminotransferase. *In:* LA Kaplan and AJ Pesce, eds., Clinical chemistry: theory, analysis, and correlation. St. Louis: The C.V. Mosby Company; pp. 895-898.
4. Wróblewski, F and JS LaDue. 1956. Serum glutamic-pyruvic transminase in cardiac and hepatic disease. Proc Soc Exp Biol Med 91: 569-571.
5. Bergmeyer, HU and M Hørder. 1980. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 18: 521-534.
6. Howe, PE. 1921. The use of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of proteins in blood. J Biol Chem 49: 93-107.
7. Howe, PE. 1921. The determination of proteins in blood—a micro method. J Biol Chem 49: 109-113.
8. Wolfson, WQ, C Cohn, E Calvary, and F Ichiba. 1948. A rapid procedure for the estimation of total protein, true albumin, total globulin, alpha globulin, beta globulin and gamma globulin in 10 ml of serum. Am J Clin Pathol 18: 723-730.
9. Saifer, A, S Gerstenfeld, and F Vacsler. 1961. Photometric microdetermination of total serum globulins by means of a tryptophan reaction. Clin Chem 7: 626-636.
10. Saifer, A and T Marven. 1966. The photometric microdetermination of serum total globulins with a tryptophan reaction: a modified procedure. Clin Chem 12: 414-417.
11. Gendler, SM. 1989. Albumin. *In:* LA Kaplan and AJ Pesce, eds., Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation. St. Louis: The C.V. Mosby Company; pp. 1029-1033.
12. Webster, D, AHC Bignell, and EC Attwood. 1974. An assessment of the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. Clin Chim Acta 53: 101-108.
13. Louderback, A, EH Mealey, and NA Taylor. 1968. A new dye-binding technic using bromcresol purple for determination of albumin in serum. Clin Chem 14: 793-794. (Abstract)
14. Pinnell, AE and BE Northam. 1978. New automated dye-binding method for serum albumin determination with bromcresol purple. Clin Chem 24: 80-86.
15. King, EJ and AR Armstrong. 1934. A convenient method for determining serum and bile phosphatase activity. Can Med Assoc J 31: 376-381.
16. Kind, PRN and EJ King. 1954. Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolysed phenol with amino-antipyrine. J Clin Pathol 7: 322-326.
17. Ohmori, Y. 1937. Uber die Phosphomonoesterase. Enzymologia 4: 217-231.
18. Fujita, H. 1939. Uber die Mikrobestimmung der Blutphosphatase. J Biochem, Japan 30: 69-87.
19. Petitclerc, C, M Delisle, M Martel, C Fecteau, and N Brière. 1975. Mechanism of action of Mg^{2+} and Zn^{2+} on rat placental alkaline phosphatase. I. Studies on the soluble Zn^{2+} and Mg^{2+} alkaline phosphatase. Can J Biochem 53: 1089-1100.
20. Tietz, NW, CA Burtis, P Duncan, K Ervin, CJ Petitclerc, AD Rinker, D Shuey, and ER Zygowicz. 1983. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. Clin Chem 29: 751-761.
21. Bowers, GN, Jr, HU Bergmeyer, M Hørder, and DW Moss. 1979. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part I. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. Clin Chim Acta 98: 163F-174F.
22 McNeely, MDD. 1989. Amylase. *In:* LA Kaplan and AJ Pesce, eds., Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. St. Louis: The C.V. Mosby Company; pp. 906-909.
23. Zinterhofer, L, L Wardlaw, P Jatlow, and D Seligson. 1973. Nephelometric determination of pancreatic enzymes. I. Amylase. Clin Chim Acta 43: 5-12.

13. Bibliografia (continuação)

24. Centers for Disease Control. 1975. Alpha-amylase methodology survey I. Atlanta: US Public Health Service; Nov, 1975.
25. Somogyi, M. 1960. Modifications of two methods for the assay of amylase. Clin Chem 6: 23-35.
26. Gillard, BK, HC Markman, and SA Feig. 1977. Direct spectrophotometric determination of a-amylase activity in saliva, with *p*-nitrophenyl α-maltoside as substrate. Clin Chem 23: 2279-2282.
27. Wallenfels, K, P Földi, H Niermann, H Bender, and K Linder. 1978. The enzymic synthesis, by transglucosylation of a homologous series of glycosidically substituted malto-oligosaccharides, and their use as amylase substrates. Carbohydrate Res 61: 359-368.
28. Karmen, A. 1955. A note on the spectrophotometric assay of glutamic-oxalacetic transaminase in human blood serum. J Clin Invest 34: 131-133.
29. Bergmeyer, HU, GN Bowers Jr, M Hørder, and DW Moss. 1977. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. Clin Chem 23: 887-899.
30. Ball, EG, JP Revel, and O Cooper. 1956. The quantitative measurement of γ-glutamyl transpeptidase activity. J Biol Chem 221: 895-908.
31. Goldbarg, JA, OM Friedman, EP Pineda, EE Smith, R Chatterji, EH Stein, and AM Rutenburg. 1960. The colorimetric determination of γ-glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. Arch Biochem Biophys 91: 61-70.
32. Orlowski M and A Meister. 1963. γ-Glutamyl-*p*-nitroanilide: a new convenient substrate for determination and study of L- and D-γ-glutamyltranspeptidase activities. Biochim Biophys Acta 73: 679-681.
33. Persijn, JP and W van der Slik. 1976. A new method for the determination of Gamma-Glutamyltransferase in serum. J Clin Chem Clin Biochem 14: 421-427.
34. Shaw, LM, JH Stromme, JL London, and L Theodorsen. 1983. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 4. IFCC method for Gamma-Glutamyltransferase. J Clin Chem Clin Biochem 21: 633-646.
35. Meites, S. 1982. Bilirubin, direct reacting and total, modified Malloy-Evelyn method. *In:* WR Faulkner and S Meites, eds., Selected Methods of Clinical Chemistry, vol. 9. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry; pp. 119-124.
36. Koller, A and LA Kaplan. 1989. Total serum protein. *In:* LA Kaplan and AJ Pesce, eds., Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. St. Louis: The C.V. Mosby Company; pp. 1057-1060.
37. Reigler, E. 1914. Eine kolorimetrische Bestimmungsmethode des Eiweisses. Z Anal Chem 53: 242-245.
38. Weichselbaum, TE. 1946. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. Am J Clin Path 16: 40-49.
39. Doumas, BT, DD Bayse, RJ Carter, T Peters Jr, and R Schaffer. 1981. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. Clin Chem 27: 1642-1650.
40. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 1992. Physician's Office Laboratory Guidelines, 2nd ed; Tentative Guideline. NCCLS document POL1-T2 (ISBN 1-56238-159-8). Villanova, PA: NCCLS; pp. A24-A28, A34.
41. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 1984. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Tentative Standard. NCCLS document H18-T. Villanova, PA: NCCLS; p. 219.
42. Rehak, NN and BT Chiang. 1988. Storage of whole blood: Effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. Clin Chem 34: 2111-2114.
43. Balistreri, WF and R Rej. 1994. Liver function. *In:* CA Burtis and ER Ashwood, eds., Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; p. 1466.
44. Jacobs, DS, WR DeMott, PR Finley, RT Horvat, BL Kasten, Jr, and LL Tilzer. 1994. Laboratory Test Handbook, 3rd ed. Hudson, OH: Lexi-Comp Inc.; pp. 127-128.
45. Benet, LZ and RL Williams. 1990. Design and optimization of dosage regimens: pharmacokinetic data. *In:* AG Gilman, TW Rall, AS Nies, and P Taylor, eds., Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 8th ed. New York: McGraw-Hill, Inc.; pp. 1650-1735.
46. Moss, DW and AR Henderson. 1994. Enzymes. *In:* CA Burtis and ER Ashwood, eds., Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; pp. 735-896.
47. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 1986. Interference Testing in Clinical Chemistry; Proposed Guideline. NCCLS Publication EP7-P. Villanova, PA: NCCLS; pp. 315-330.
48. Painter, PC, JY Cope, and JL Smith. 1994. Appendix. *In:* CA Burtis and ER Ashwood, eds., Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; pp. 2161-2217.
49. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 1992. Physician's Office Laboratory Guidelines, 2nd ed; Tentative Guideline. NCCLS document POL1-T2 (ISBN 1-56238-159-8). Villanova, PA: NCCLS; pp. A24-A28, A34.
50. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 1984. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Tentative Standard. NCCLS document H18-T. Villanova, PA: NCCLS; p. 219.
51. Rehak, NN and BT Chiang. 1988. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. Clin Chem 34: 2111-2114.

13. Bibliografia (continuação)

52. Henry, RJ, DC Cannon, and JW Winkelman. 1974. Clinical Chemistry: Principles and Technics, 2nd ed. New York: Harper and Row; pp. 417-421; 1058-1059
53. Jacobs, DS, WR DeMott, PR Finley, RT Horvat, BL Kasten, Jr, and LL Tilzer. 1994. Laboratory Test Handbook, 3rd ed. Hudson, OH: Lexi-Comp Inc.; pp. 127-128.
54. Benet, LZ and RL Williams. 1990. Design and optimization of dosage regimens: pharmacokinetic data. In: AG Gilman, TW Rall, AS Nies, and P Taylor, eds., Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 8th ed. New York: McGraw-Hill, Inc.; pp. 1650-1735.
55. Moss, DW and AR Henderson. 1994. Enzymes. In: CA Burtis and ER Ashwood, eds., Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; pp. 735-896.
56. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 1986. Interference Testing in Clinical Chemistry; Proposed Guideline. NCCLS Publication EP7-P. Villanova, PA: NCCLS; pp. 315-330.
57. Painter, PC, JY Cope, and JL Smith. 1994. Appendix. In: CA Burtis and ER Ashwood, eds., Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; pp. 2161-2217.
58. Young, DS. 1990. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3rd ed. Washington, DC: AACC Press.
59. Young, DS. 1991. Effects of drugs on clinical laboratory tests. 1991 supplement to the third edition. Washington, DC:
60. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 1992. Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices, 2nd ed.; Tentative Guideline. NCCLS document EP5-T2. Villanova, PA: NCCLS.